

Metode Inokulasi dan Pengamatan Perkembangan *Phytophthora palmivora* Serta Gejalanya Sebagai Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Dhian Sri Anugrah¹, Umrah¹, Asrul²

¹) Jurusan Biologi FMipa Untad; ²) Jurusan Agrotek Faperta Untad.
Corresponding author, E-mail : umrah.mangonrang62@gmail.com

ABSTRACT

Phytophthora palmivora is one of pathogenic mushroom causes black pod disease of cocoa plant. The research about *P. palmivora* development and symptoms as the cause black pod disease of cocoa (*Theobroma cacao* L.) was conducted from March until August 2016. Inoculation treatment of *P. palmivora* compared with aquades controls carried on cocoa fruit, with use “singlespot” and “polyspot” method. Observation parameters include incubation periode, extensive spotting, the percentage of *P. palmivora* infection and observation of macroscopic and microscopic *P. palmivora* mushroom. The results showed that in *P. palmivora* infection attack on cocoa fruit tends to grow up from third day to seventh day with average extensive spotting infection start on third day to seventh day are 6,4 cm, 8,1 cm, 9,6 cm, 12,72 cm, and 12,20 cm. Extensive spotting average *P. palmivora* infection most big is 14,22 cm while the percentage average most big is 90% and macroscopic structure showing their blackish brown spot on fruit surface and derived morphological characters of the hyphae are not insulated and ramified. Visible mycelium, clamydospores, papilla, zoospore dan sporangium forms such as Pier fruit on microscopic observation.

Keyword: Cocoa (*Theobroma cacao* L.), *Phytophthora palmivora*, black pod Disease of cocoa.

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas ekspor yang memberikan kontribusi dalam upaya meningkatkan devisa Indonesia dan penyedia lapangan kerja, sehingga berperan penting bagi perekonomian nasional (Statistik Indonesia, 2009 ; Purwati, 2011).

Propinsi Sulawesi Tengah termasuk daerah yang mengembangkan tanaman kakao, pada tahun 2013 produksi mencapai 149.071 ton dengan luas areal perkebunan kakao mencapai 284.125 ha (Direktoral Jendral Perkebunan, 2014). Hal ini tidak lepas dari berbagai usaha pengendalian penyakit tanaman, diantaranya adalah

penyakit busuk buah kakao (Harni dkk., 2013). Menurut Hakkar dkk., (2014), busuk buah pada buah kakao disebabkan *Phytophthora palmivora* yang merupakan salah satu jamur patogenik pada kakao dan hampir ditemukan pada semua penyakit tanaman, diantaranya penyakit hawar daun pada tanaman kentang (Purwantisari dkk, 2015), penyakit busuk pangkal batang (BPB) pada tanaman lada (Manohara, 2008).

Busuk buah yang disebabkan *P. palmivora* menyerang pada semua umur buah dari buah muda dan buah tua. Gejala penyakit dapat terlihat pada pangkal, tengah maupun ujung buah kakao (Karmawati dkk., 2010). Penyakit ini diketahui dapat menurunkan hasil produksi kakao hingga 44% (Rubiyo dan Amaria, 2013).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret 2016 sampai Agustus 2016. Bertempat di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako. Adapun metode dalam penelitian ini adalah metode inokulasi *P. palmivora* pada buah dilakukan dengan "single spot" dan "polispots".

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah "Lactophenol Blue", akuadest, alkohol 70 %, jamur *P. palmivora* dari

buah kakao yang terserang, buah kakao yang masih sehat, kapas, selotip, plastik transparan, kertas tissue, label dan air.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tulis, kamera, gunting, gunting steek, gelas ukur 100 ml, pinset, jangka sorong, alat pelubang, erlenmeyer 100 ml, kaca objek, kaca penutup, mikroskop, mikro pipet, pipet, bunsen, hot plate, autoklaf, jarum inokulasi, tabung reaksi, rak tabung dan *haemocytometer*.

Prosedur Penelitian

a. Penyiapan Buah Kakao

Kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah kakao yang berasal dari perkebunan rakyat, Desa Makmur, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi, Propinsi Sulawesi Tengah.

Buah kakao yang diambil merupakan buah muda yang masih sehat, dipilih buah yang besarnya hampir seragam.

b. Pembuatan Inokulum

Phytophthora palmivora

Sumber inokulum *P. palmivora* diambil dari buah kakao yang terinfeksi penyakit busuk buah, kemudian diinokulasi pada buah kakao sehat (Susilo dan Anitasari, 2014) yang di peroleh dari perkebunan rakyat, Desa Makmur, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi,

Propinsi Sulawesi Tengah. Dengan cara mengambil buah kakao yang terinfeksi kemudian mengisolasi jamur *P. palmivora*. Sebelum jamur *P. palmivora* diinokulasikan pada buah kakao sehat terlebih dahulu permukaan buah dicuci menggunakan air hingga benar-benar bersih (Susilo dan Anitasari, 2014) dan disterilkan menggunakan alkohol 70% (Hafsah, 2015). Selanjutnya bagian buah dilubangi menggunakan alat pelubang berdiameter 5 mm yang telah disterilkan sedalam 5 mm, pada 2 posisi sejajar. Kemudian diinokulasi *P. palmivora* dan lubang ditutup menggunakan kapas yang dibasahi aquadest steril kemudian direkatkan dengan selotip. Selanjutnya buah kakao dibungkus dengan kertas tissue dan plastik transparan guna menjaga kelembaban, kemudian dilanjutkan dengan proses inkubasi selama 7 hari.

c. Penyiapan dan Inokulasi Suspensi *Phytophthora palmivora*

Jamur *P. palmivora* diperoleh dari buah yang telah diinkubasi selama 7 hari. Miselium *P. palmivora* yang tumbuh pada permukaan buah diambil menggunakan jarum

inokulasi, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 ml aquadest dan dikocok hingga homogen membentuk suspensi (Asrul, 2009). inokulasi suspensi *P. palmivora* sebanyak $1,99 \times 10^8$ spora/ml dilakukan pada permukaan buah kakao yang sebelumnya telah dilukai dengan alat pelubang berdiameter 5 mm.

Suspensi jamur *P. palmivora* sebanyak 0.5 ml diinokulasikan pada kapas berukuran 2x2 cm dan ditutup dengan selotip. Selanjutnya, buah dibungkus dengan plastik transparan agar kelembabannya terjaga kemudian diinkubasi lalu dilakukan pengamatan hingga munculnya bercak infeksi sampai hari ke 7 setelah inokulasi.

PENGAMATAN

Gejala Penyakit

Pengamatan gejala penyakit busuk buah kakao dilakukan secara perpose. Berdasarkan gejala yang timbul pada buah yang diinokulasi dengan jamur *P. palmivora* di laboratorium. Gejala tersebut berupa warna coklat kehitaman dan ditutupi miselium berwarna putih kadang terlihat seperti bulu/benang putih pada buah kakao.



Gambar 2. Buah kakao, kiri buah kakao yang tidak terinfeksi perlakuan A_0 (kontrol); kanan buah kakao yang terinfeksi A_2 (perlakuan *P. palmivora*)

Luas bercak

Luas bercak diamati dan diukur setelah munculnya gejala infeksi hingga hari ke 7. Menggunakan rumus seperti yang digunakan Rubiyo dkk., (2010) dalam Efendi dkk., (2015) :

$$L = 3,14 \times ((p + l)/4)^2$$

Keterangan : L = Luas Bercak

p = Panjang Bercak

l = Lebar Bercak

dan untuk melihat luas bercak pada percobaan ini menggunakan metode "Single spot" dilakukan dengan cara membuat satu lubang inokulasi per buah, dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Buah kakao, kiri buah kakao yang tidak terinfeksi perlakuan A_0 (kontrol); kanan buah kakao yang terinfeksi A_2 (perlakuan *P. palmivora*).

Persentase infeksi *Phytophthora palmivora*

Pengamatan persentase infeksi *P. palmivora* pada buah dilakukan setelah munculnya gejala infeksi, dengan menggunakan rumus seperti yang digunakan Hafsah (2015), dengan sedikit modifikasi sebagai berikut:

Persentase Infeksi =

$$\frac{\text{Jumlah spot terinfeksi}}{\text{Jumlah spot terinfeksi} + \text{Jumlah spot Sehat}} \times 100 \%$$

Untuk melihat persentase infeksi pada percobaan ini menggunakan metode "polispots" dilakukan dengan cara membuat sepuluh lubang per buah, seperti yang terlihat pada gambar 2 berikut.

Pengamatan Maroskopik dan Mikroskopik *Phytophthora palmivora*

Pengamatan makroskopik dilakukan dengan melihat gejala infeksi yang muncul pada permukaan buah berupa bercak coklat kehitaman.

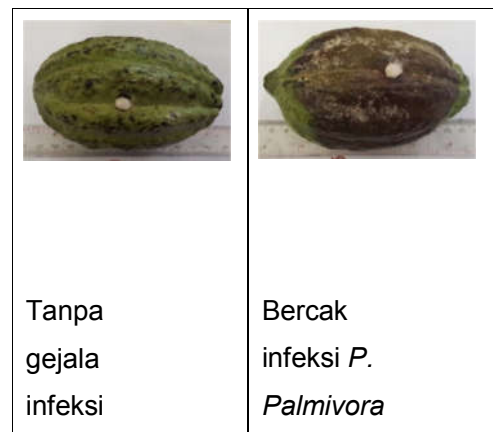
Pengamatan mikroskopik dilakukan diawal dan akhir pengamatan. Pengamatan diawal dilakukan untuk melihat *P. palmivora* yang akan diinokulasikan pada setiap perlakuan guna memastikan jamur yang diinokulasikan merupakan jamur *P. palmivora* sedangkan pada akhir pengamatan dilakukan dengan mengamati jamur patogenik *P. palmivora* pada buah kakao yang terinfeksi. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan “*Lactophenol Blue*” yang bertujuan untuk mewarnai jamur sehingga preparat mudah divisualisasikan dengan mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Gejala Penyakit

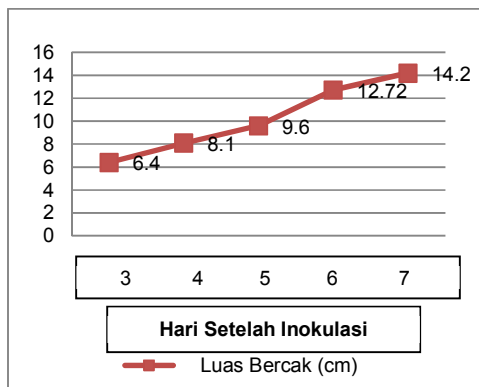
Hasil pengamatan munculnya gejala penyakit pada buah kakao perlakuan A₁ (*P. palmivora*) memiliki waktu awal munculnya gejala infeksi pada hari ke 3 setelah inokulasi. Gejala infeksi *P. palmivora* pada buah kakao ditandai dengan adanya bercak hitam kecoklatan di area sekitar perlakuan dan lama-kelamaan buah menjadi busuk hitam dan keras. (Gambar 3).



Gambar 3. Buah kakao yang terinfeksi *P. palmivora*

Luas bercak

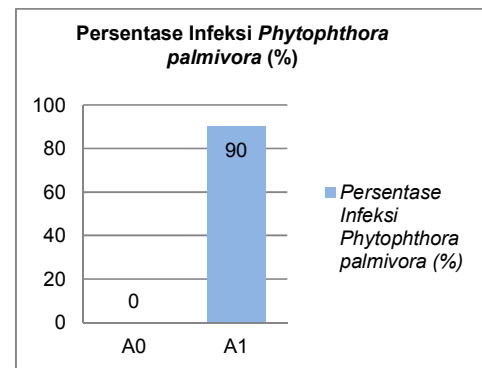
Perkembangan serangan *P. palmivora* pada buah kakao diamati dan diukur, setelah munculnya gejala infeksi hingga hari ke-7. Hasil pengukuran luas bercak infeksi buah kakao disajikan pada Gambar 4 berikut:



Gambar 4 menunjukkan bahwa bercak infeksi buah kakao yang terjadi pada perlakuan A_1 (*P. palmivora*) mengalami perkembangan dari hari ke-3 sampai hari ke-7 setelah inokulasi. Diameter bercak terbesar terlihat pada hari ke-7 dengan rata-rata 14,20 cm, sedangkan luas bercak infeksi terkecil pada hari ke-3 dengan rata-rata 6,40 cm. pada perlakuan A_0 (Kontrol) tidak menunjukkan adanya gejala infeksi *P. palmivora* sehingga tidak dilakukan pengukuran luas bercak infeksi.

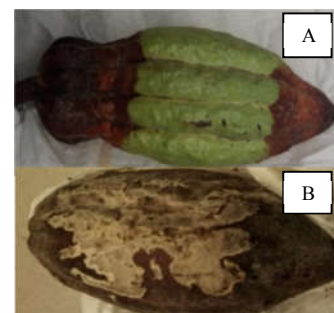
Persentase infeksi *Phytophthora palmivora*

Persentase infeksi *P. palmivora* pada buah kakao, menunjukkan persentase rata-rata infeksi pada perlakuan A_1 (perlakuan *P. palmivora*) adalah 90% sedangkan perlakuan A_0 (kontrol aquadest) memiliki persentase yaitu 0 %. Seperti yang disajikan pada gambar 5 berikut:



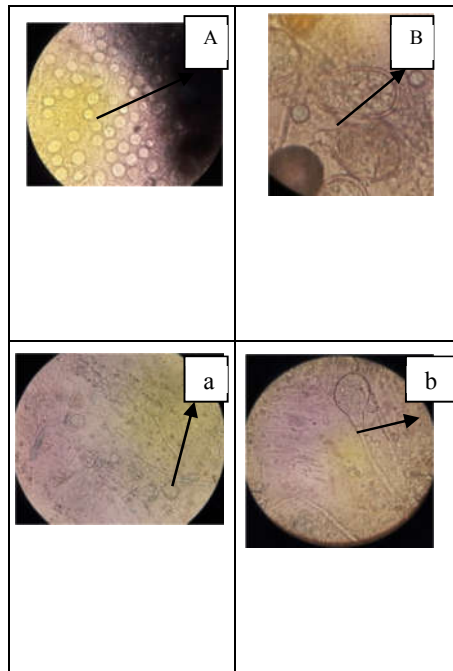
Pengamatan Maroskopik dan Mikroskopik *Phytophthora palmivora*

Hasil pengamatan di lapangan (Gambar 6, a,b) secara makroskopik buah kakao yang terinfeksi memiliki gejala berupa bercak coklat kehitaman dapat muncul pada pangkal dan ujung buah lama-kelamaan buah menjadi busuk hitam dan keras. Sedangkan pengamatan secara mikroskopik (Gambar 7) yang diperoleh, jamur *P. palmivora* memiliki karakter morfologi hifa yang tidak bersekat dan bercabang. Terlihat miselium, papilla, zoospora dan bentuk sporangium seperti buah pier.



Gambar 6. Buah kakao, **A.** Buah yang terinfeksi jamur *P. palmivora* terjadi secara alami mulai dari ujung dan pangkal buah, **B.**

Buah kakao yang telah terinfeksi keseluruhan.



Gambar 7. *P. palmivora* Setelah inokulasi pada buah kakao sehat. (A, a) Gumpalan sporangium pada miselium. (B, b) Papila.

B. Pembahasan

Gejala penyakit pada buah kakao terlihat pada hari ke-3, setelah inokulasi pada perlakuan A₁ (perlakuan *P. palmivora*), ditandai dengan munculnya warna coklat kehitaman pada permukaan buah (Gambar 3) dan lama-kelamaan buah menjadi busuk hitam dan keras (Gambar 6,b).

Hal ini didukung oleh Umayah dkk., (2006), Konam dkk., (2009),

Karmawati dkk., (2010), Rubiyo dan Amaria, (2013), mengatakankan bahwa gejala buah kakao yang terinfeksi berwarna coklat kehitaman dan ditutupi miselium berwarna putih, menjadi busuk basah dan selanjutnya gejala menyebar menutupi seluruh permukaan buah. Darmono (1997), mengatakan bahwa infeksi *P. palmivora* pada buah kakao secara langsung melalui jaringan kulit buah kakao dengan pertumbuhan hifa biasanya interselluler dan membentuk haustorium di dalam sel inang atau secara tidak langsung melalui degradasi dinding sel buah kakao seperti luka buatan.

Menurut Karmawati, (2010), Penyebaran penyakit juga didukung oleh keadaan lingkungan yang lembab terutama pada musim hujan. Tetesan air hujan dapat melepaskan miselium yang ada pada bagian buah yang terinfeksi dan apabila disertai dengan hembusan angin maka spora yang lepas dapat disebarkan sehingga terjadi infeksi baru. Selain itu, penyebaran juga dapat terjadi dari buah satu ke buah lain melalui berbagai cara persinggungan antara buah sakit dan buah sehat, melalui binatang penyebar seperti serangga, tikus, tupai atau bekicot.

Perlakuan A_1 (*P. palmivora*) yang memperlihatkan adanya infeksi jamur *P. palmivora* memiliki luas bercak infeksi terbesar pada hari ke-7 dengan luas rata-rata infeksi 14,20 cm sedangkan luas bercak infeksi terkecil adalah pada hari ke-3 dengan rata-rata infeksi 6.40 cm, dapat dilihat pada gambar 4, sedangkan persentase infeksi *P. palmivora* perlakuan A_1 (*P. palmivora*) memiliki persentase rata-rata infeksi 90% (Gambar 4). Menurut Iwaro *et al.*, (1999), Cenderung berkembangnya luas bercak dan persentase infeksi *P. palmivora* merupakan tolak ukur utama terhadap infeksi jamur patogenik. peningkatan diameter bercak ini didukung Rubiyo dan Amaria (2013), yang mengatakan bahwa kecepatan berkembangnya jamur patogenik sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, jika kondisi lingkungan serta kelembabannya sesuai maka miselium yang berwarna putih dan mengandung sporangium akan sangat cepat menebar ke permukaan buah. Selain itu, Susilo dan Anitasari. (2014), melaporkan bahwa perkembangan dan penyebaran *P. palmivora* didukung dengan keadaan lingkungan yang lembab.

Matitaputty dkk. (2014), Rosalie dan David. (2008),

melaporkan bahwa Gejala penyakit busuk buah kakao memperlihatkan adanya bercak coklat kehitaman pada pangkal, tengah maupun ujung buah kakao. Penyakit ini menyerang pada semua umur buah. Buah yang telah membusuk berwarna hitam keras serta ditutupi miselium berwarna putih. Hal ini sesuai dengan pengamatan yang diperoleh di lapangan seperti yang terlihat pada gambar 6. Sedangkan gambar 7 memperlihatkan struktur mikroskopik jamur *P. palmivora* memiliki hifa yang tidak bersekat. Terlihat miselium, bentuk Sporangium seperti buah pier dan pada ujung sporangium terdapat papilla yang jelas ini serupa dengan pengamatan Tanijogonegoro (2013), bahwa jamur *P. palmivora* memiliki miselium, sporangium dan papila yang dapat menginfeksi jaringan secara interseluler. Hal ini juga didukung dengan hasil yang didapat Motulo dkk, (2007), Efendi dkk, (2014), Wahdania (2016), mengatakan bahwa *P. palmivora* memiliki bentuk koloni yang tidak beraturan, hifa yang bercabang dan tidak bersekat. Sporangium berbentuk seperti buah pear, pada ujungnya terdapat papilla yang menonjol. Berfungsi sebagai tempat keluarnya zoospore dan sporangium. Oktavianingsih (2015),

melaporkan bahwa Ciri khas dari *P. palmivora* memiliki sporangium yang bentuk papilanya mencolok.

KESIMPULAN

Serangan *P. palmivora* pada buah kakao cenderung berkembang dari hari setelah munculnya gejala infeksi hingga hari ke-7 setelah inokulasi, dengan waktu awal munculnya gejala infeksi adalah pada hari ke-3. Luas bercak rata-rata terbesar 14,20 cm dan persentase rata-rata infeksi 90%, dengan struktur mikroskopik jamur *P. palmivora* memperlihatkan adanya hifa yang tidak bersekat. Terlihat miselium, klamidospora, bentuk Sporangium seperti buah pier dan pada ujung sporangium terdapat papilla.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut lagi terhadap pengendalian penyakit busuk buah kakao yang disebabkan jamur *P. palmivora* baik pada tanaman kakao maupun tanaman budidaya lainnya, dengan menggunakan pengendalian secara biologi (hayati)

DAFTAR PUSTAKA

- Asrul, 2009, Uji Daya hambat jamur antagonis *Trichoderma* sp. dalam formulasi kering berbentuk tablet terhadap luas bercak *Phytophthora palmivora* pada buah kakao, *J. Agrisains* 10 (1) : 21 - 27.
- Darmono, T. W. 1997. Virulence and genetic integrity among isolate of *Phytophthora palmivora* from diseased cocoa pods. *J. Menara Perkebunan* 65 (1) : 34-42.
- Direktoral Jendral Perkebunan, 2014, Statistik perkebunan Indonesia komoditas kakao 2013-2015, Direktoral Jendral Perkebunan, Jakarta.
- Efendi, S., Sulistyowati, L., dan Cholil, A., 2014. Potensi jamur antagonis dari serasah kulit buah kakao untuk menekan perkembangan *Phytophthora palmivora* (Pythiales : Phythiaceae) pada buah dan kompos kulit kakao. *J. HPT* 2 (3) 122-130.
- Hafsah, S., Zuyasna, dan Firdaus, 2015. Penapisan genotipe kakao tahan penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora*) di Aceh Besar. *J. Floratek* 10: 79 - 86.
- Harni, R., Taufiq, E., dan Amaria, W., 2014. Pengaruh formula fungisida nabati minyak cengkeh dan serai wangi terhadap penyakit busuk buah kakao, *J. TIDP* 1(1) : 41-48.
- Hakkar, A. A., Rosmana, A., dan Rahim, M. D., 2014. Pengendalian penyakit busuk buah *Phytophthora* pada kakao dengan cendawan endofit *Trichoderma asperellu*. *J. Fitopatologi Indones*, 10 (5) : 139–144.
- Iwaro, D. A., T. N. Sreenivasan and Umaharan. 1999. Studies on black pod disease in trinidad. proc. int. workshop on the contribution of disease resistance to cocoa variety improvement. Salvador, Brasil, 24-26th November. 67-74.
- Karmawati, E., Mahmud, Z., Syakir, M., Munarso, S. J., Ardana, I. K., dan Rubiyo, 2010. Budidaya dan pasca panen kakao, pusat penelitian dan pengembangan perkebunan. Bogor.

- Konam, J., Y. Namaliu, R. Daniel dan D. Guest. 2009. Pengelolaan hama dan penyakit terpadu untuk produksi kakao berkelanjutan. panduan pelatihan untuk petani dan penyuluh. Pusat Penelitian Pertanian Internasional Australia.
- Manohara, D., 2008. Pengaruh kelengasan tanah terhadap daya bertahan hidup *Trichoderma harzianum* dan efikasinya terhadap *Phytophthora capsici* L. Bul. J. Litro. XIX (2) : 145 – 153.
- Matitaputty, A., Handry R.D. Amanupunyo, Dan Rumahlewang, W., 2014. Kerusakan tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) akibat penyakit penting di kecamatan Taniwel, Kabupaten Seram bagian Barat. J. Budidaya Pertanian, 10 (1): 6-9
- Motulu, H. FJ., S-Sinaga, M., Hartana, A., Suastika, G., dan Aaswidinnoor, H., 2007. Karakter morfologi dan molekuler isolat *Phytophthora palmivora* asal kelapa dan kakao. J. Litri 13 (3) : 111-118.
- Oktavianingsih, R., 2015. Uji keefektifan *Trichoderma* sp. dalam mengendalikan *Phytophthora palmivora* Butler pada daun bibit tanaman kakao (*Theobroma cacao* L). Skripsi Jurusan Biologi F.Mipa, Universitas Tadulako Palu.
- Purwati, E., 2011. Hubungan kepadatan inokulum dengan intensitas penyakit vsd pada pertanaman kakao di dua lokasi kebun wilayah ptpn xii. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Purwantisari, S., Priyatmojo, A., Sancayaningsih, R. P., dan Kasiamdari, R. S., 2015. Aplikasi jamur antagonis *Trichoderma viride* terhadap pengurangan intensitas serangan penyakit hawar daun serta hasil tanaman kentang. Pdf. Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Rubiyo, Purwantara A., dan Sudarsono, 2010. Ketahanan 35 klon kakao terhadap infeksi *Phytophthora palmivora* Butl. berdasarkan uji detached pod, J. Litri 16 (4) : 172-178. (dalam Efendi dkk., 2015)
- Rubiyo, dan Amaria, W., 2013. Ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora* butl), balai penelitian tanaman industri dan penyegar, perspektif, J. Perspektif 12(1) : 23-36.
- Rosalie, D. & C. Guest. 2008. *Phytophthora palmivora* Butler (Butler) University of Sydney.
- Statistik Indonesia, 2009. Badan Pusat Statistik Indonesia. Jakarta.
- Susilo, A. W., dan Anitasari, I., 2014. Evaluasi ketahanan beberapa klon kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap *Phytophthora palmivora*. J. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao 30 (1) : 1-14.
- Tanijogonegoro, 2013. busuk buah kakao - *Phytophthora palmivora*, <http://www.tanijogonegoro.com/2013/11/busuk-phytophthora.html> (diunduh pada tanggal 12 Februari 2016).
- Umayah, A., dan Purwantara, A., 2006. Identifikasi isolat *Phytophthora* asal kakao, J. Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia, 74(2) : 76-85.
- Wahdania, I., 2016 Uji daya hambat *Aspergillus niger* pada berbagai bahan pembawa terhadap *Phytophthora Palmivora* penyebab busuk buah kakao (*Theobroma cacao* L.), Skripsi. Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako Palu.